

## Ikan mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) - Bagian 1: Induk pokok (*parent stock*)



© BSN 2016

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN  
Email: [dokinfo@bsn.go.id](mailto:dokinfo@bsn.go.id)  
[www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)

Diterbitkan di Jakarta



## Daftar Isi

|  |     |
|--|-----|
| Prakata .....  | ii  |
| Pendahuluan.....   | iii |
| 1. Ruang Lingkup .....   | 1   |
| 2. Acuan Normatif.....   | 1   |
| 3. Istilah dan definisi .....  | 1   |
| 4. Persyaratan .....   | 2   |
| 4.1 Kriteria kualitatif .....  | 2   |
| 4.2 Kriteria kuantitatif .....   | 2   |
| 5. Cara pengukuran dan pemeriksaan .....   | 2   |
| Tabel 1 - Kriteria kuantitatif induk ikan mas.....                                       | 2   |
| Lampiran A (normatif) Bentuk, ukuran dan warna masing – masing varietas .....            | 5   |
| Lampiran B (normatif) Karakterisasi marka Cyca-DAB1*05 (MHC+) .....                      | 7   |
| Lampiran C (normatif) Uji Tantang.....   | 9   |
| Gambar A.1. Bentuk, ukuran dan warna masing – masing varietas.....                       | 5   |
| Gambar B.1. Tahapan karakterisasi ikan mas yang mempunyai marka <i>Cyca-DAB1*05</i> .... | 7   |
| Gambar C1. Diagram penyiapan dan prosedur uji tantang <i>Aeromonas hydrophila</i> .....  | 9   |
| Gambar C2. Diagram penyiapan dan prosedur uji tantang KHV .....                          | 11  |
| Bibliografi .....  | 13  |



## Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) Ikan mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) - Bagian 1: Induk pokok (*parent stock*), disusun sebagai upaya meningkatkan jaminan mutu (*quality assurance*), mengingat produk ikan mas banyak diperdagangkan serta mempunyai pengaruh terhadap benih yang dihasilkan sehingga diperlukan persyaratan teknis tertentu.

Standar ini merupakan penggabungan dan revisi SNI 01-6130-1999 Induk ikan mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus) strain Majalaya kelas induk pokok (*parent stocks*) dan SNI 01-6134-1999 Induk ikan mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus) strain Sinyonya disusun oleh komite teknis 65-07: Perikanan Budidaya, yang telah dirumuskan melalui konsensus pada tanggal 15-17 Oktober 2015 di Bogor dan dihadiri oleh lembaga pemerintah, pakar, konsumen, produsen serta instansi/stakeholder lainnya.

Standar ini merupakan bagian dari standar ikan mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) yang terdiri dari beberapa bagian, yaitu:

- Bagian 1 : Induk pokok (*parent stock*)
- Bagian 2 : Benih
- Bagian 3 : Produksi induk
- Bagian 4 : Produksi benih

Didalam dokumen standar ini terdapat halaman berwarna guna memudahkan pengguna dalam memahami substansi.

Standar ini telah melalui jajak pendapat pada tanggal 1 Februari 2016 sampai dengan 30 Maret 2016 dengan hasil akhir disetujui menjadi RASNI.



## Pendahuluan

Indonesia sebagai negara produsen ikan dan udang yang ditujukan untuk memenuhi kebutuhan konsumsi dalam negeri maupun ekspor, dituntut untuk mengembangkan pengendalian sistem mutu untuk menjamin keamanan hasil perikanan. Di bidang perikanan budidaya, pengendalian sistem mutu dan keamanan hasil perikanan budidaya antara lain melalui penerapan Cara Pembenihan Ikan yang Baik (CPIB).

Untuk menjamin mutu benih secara konsisten dan berkesinambungan, pengendalian mutu perlu dilakukan mulai dari pra produksi, proses produksi sampai dengan pasca produksi. Hal ini perlu ditempuh mengingat *end product testing* dianggap tidak dapat menjamin kelangsungan produksi dan mutu secara berkelanjutan. Pengendalian mutu dilakukan mulai dari pra produksi sampai dengan distribusi melalui penerapan sistem manajemen mutu agar proses produksi dan hasilnya memenuhi persyaratan yang telah ditentukan dan sesuai dengan harapan pelanggan. Disamping permasalahan di atas, saat ini beberapa isu penting berkembang menjadi tuntutan dalam perdagangan global, antara lain tentang *food safety*, lingkungan dan tanggung jawab sosial. Isu-isu tersebut perlu mendapat perhatian para pelaku usaha pembenihan dalam memenangkan persaingan produknya.

Standar ini dimaksudkan untuk dapat digunakan oleh produsen benih dan instansi yang memerlukan serta untuk pembinaan mutu dalam rangka sertifikasi. Standar ini merupakan penggabungan dan revisi SNI 01-6130-1999 dan SNI 01-6134-1999, dengan memperhatikan peraturan sebagai berikut:

1. Keputusan Menteri Pertanian No. 26 Tahun 1999 tentang Pengembangan Perbenihan Nasional;
2. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No. KEP.07/MEN/2004 tentang Pengadaan dan Peredaran Benih Ikan;
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No. KEP.02/MEN/2007 tentang Cara Budidaya Ikan yang Baik;
4. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan No. PER.19/MEN/2010 tentang Pengendalian Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan.







## Ikan mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) – Bagian 1 : Induk pokok (*parent stock*)

### 1. Ruang Lingkup

Standar ini menetapkan persyaratan induk pokok ikan mas yang dapat digunakan untuk keperluan produksi benih.

### 2. Acuan Normatif

Standar ini menggunakan acuan bertanggal dan acuan tidak bertanggal. Untuk acuan tidak bertanggal, sebaiknya digunakan edisi terakhir.

SNI 6489, *Metode pengambilan contoh benih ikan dan udang*

SNI 7306, *Prosedur pengambilan, penanganan dan pengiriman contoh air dan ikan untuk pemeriksaan penyakit*

OIE *Manual of Diagnostic Test for Aquatic Animal* 2015 Chapter 2.3.8

### 3. Istilah dan definisi

Untuk tujuan penggunaan dokumen ini, istilah dan definisi berikut digunakan

#### 3.1

##### **induk penjenis (*great grand parent stock*)**

induk ikan yang dihasilkan oleh dan di bawah pengawasan penyelenggara pemulia

#### 3.2

##### **induk dasar (*grand parent stock*)**

induk ikan keturunan pertama dari induk penjenis

#### 3.3

##### **induk pokok (*parent stock*)**

induk ikan keturunan pertama dari induk dasar

#### 3.4

##### **gonad**

bagian dari organ reproduksi pada ikan yang menghasilkan telur pada ikan betina dan sperma pada ikan jantan

#### 3.5

##### **matang gonad**

kondisi ikan yang sudah siap untuk memijah

#### 3.6

##### **varietas**

jenis dalam suatu spesies tertentu yang dihasilkan dari kegiatan pemuliaan dan dapat dibedakan dari kelompok lain berdasarkan sifat tertentu



### 3.7

#### fekunditas

jumlah telur ikan yang dikeluarkan per satuan bobot tubuh induk

### 3.8

#### kanulasi

teknik pengambilan telur melalui lubang genital pada induk ikan dengan menggunakan kateter

### 3.9

#### morfometrik

ukuran yang berhubungan dengan panjang, lebar dan tinggi dari tubuh ikan atau bagian-bagian tubuh ikan

### 3.10

#### meristik

hasil penghitungan secara kuantitatif ciri sirip dan linea lateralis

## 4. Persyaratan

### 4.1 Kriteria kualitatif

- asal: merupakan hasil pembesaran benih calon induk yang berasal dari induk dasar.
- warna: ditentukan mulai dari kepala bagian atas sampai pangkal ekor bagian atas, serta mulai kepala bagian bawah sampai ke pangkal ekor. Warna masing-masing varietas mengacu pada pola warna sesuai Lampiran A.
- tubuh: normal secara morfologis (anggota tubuh lengkap, tidak cacat dan tidak ada kelainan bentuk).
- kesehatan: tubuh tidak ditemplei oleh parasit, tidak ada benjolan, tahan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan KHV, tidak terjangkit atau membawa virus *spring viremia of carp* (SVC).

### 4.2 Kriteria kuantitatif

Kriteria kuantitatif seperti pada Tabel 1

**Tabel 1 - Kriteria kuantitatif induk ikan mas**

| Kriteria           | Satuan         | Jenis Kelamin |                |
|--------------------|----------------|---------------|----------------|
|                    |                | Jantan        | Betina         |
| 1. umur            | bulan          | minimal 8     | minimal 18     |
| 2. panjang standar | cm             | minimal 22    | minimal 35     |
| 3. bobot           | g              | minimal 500   | minimal 2 000  |
| 4. fekunditas      | butir/kg induk | -             | minimal 85 000 |
| 5. diameter telur  | mm             | -             | 0,9 – 1,1      |
| 6. masa produktif  | tahun          | 6             | 5              |

## 5. Cara pengukuran dan pemeriksaan

### 5.1 umur

dihitung sejak telur menetas, yang dinyatakan dalam bulan.

### 5.2 kematangan gonad

- Jantan: ditekan bagian pangkal urogenital akan mengeluarkan sperma berwarna putih dan kental



- b) Betina: diraba bagian perut ikan betina dan pengamatan bagian lubang genital. Ikan betina yang telah matang gonad ditunjukkan dengan bagian perut membesar, lunak kalau diraba dan bagian lubang genital menonjol. Pengambilan contoh telur dilakukan dengan teknik kanulasi.

### 5.3 panjang standar

diukur dari ujung mulut (anterior) sampai dengan pangkal ekor (*peduncle*) yang dinyatakan dalam sentimeter (cm).

### 5.4 panjang kepala

diukur dari ujung mulut (anterior) sampai dengan ujung belakang tutup insang (operkulum) yang dinyatakan dalam sentimeter (cm).

### 5.5 tinggi tubuh

diukur secara tegak lurus dari dasar perut sampai ke bagian punggung tertinggi dengan menggunakan jangka sorong yang dinyatakan dalam sentimeter (cm).

### 5.6 tebal tubuh

diukur pada bagian tubuh (bukan bagian perut) paling tebal dengan jangka sorong, dinyatakan dalam sentimeter (cm).

### 5.7 bobot tubuh

ditimbang secara individu yang dinyatakan dalam gram (g).

### 5.8 fekunditas

dihitung jumlah telur yang dikeluarkan dibandingkan dengan bobot tubuh, yang dinyatakan dalam butir/kg induk.

### 5.9 diameter telur

diukur dengan mikrometer yang dipasang pada lensa okuler mikroskop atau dengan mengambil contoh uji 10 butir telur dideretkan kemudian diukur menggunakan penggaris/kaliper, yang dinyatakan dalam milimeter (mm).

### 5.10 masa produktif

dihitung sejak pemijahan pertama, yang dinyatakan dalam tahun

### 5.11 kesehatan

diperiksa secara visual untuk memeriksa adanya gejala penyakit dan ketidaknormalan (abnormalitas) morfologi ikan. Pengamatan laboratoris dilakukan untuk pemeriksaan jasad patogen (parasit, jamur, virus dan bakteri). ketahanan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan KHV ditentukan melalui pengujian molekuler dengan marka *Cyca-DAB 1\*05* (sesuai dengan Lampiran B). Deteksi SVC mengacu pada *Manual of Diagnostics Test for Aquatic Animal 2015 Chapter 2.3.8*

### 5.12 warna

Penentuan warna ikan mas didasarkan pada piranti lunak *Color Finder* versi 1.0.0 (*update* pada April 2014) yang dapat diinstal pada *handphone* berbasis android. Aplikasi ini dapat mencari dan menemukan warna suatu objek dalam foto dan menampilkannya ke dalam 8 area warna berbeda. Warna suatu objek dapat dipengaruhi oleh bagaimana mata mendeskripsikan warna tersebut dan cahaya yang diterima oleh objek tersebut.

Salah satu model penentuan warna adalah menggunakan RAL yang umum digunakan sebagai standar penentuan warna di Eropa. Warna yang ditentukan dengan model RAL dapat pula dikonversi ke dalam model RGB (*red-green-blue*) maupun model HEX atau HEXADECIMAL.



Panduan dalam menggunakan aplikasi ini adalah:

1. Kamera diatur tanpa lampu (*flash*), tanpa efek (*effects*), *exposure value* pada 0, mode fokus pada *macro* atau *autofocus*, *white balance* pada auto, ISO pada 100 (terkecil), dan *auto contrast* diatur off.
2. Objek yang akan diambil gambarnya diatur menggunakan satu warna latar yang berbeda dengan warna objek, seperti putih, biru atau hijau. Hal ini karena aplikasi juga akan menampilkan warna latar ke dalam proses pengolahannya.
3. Pengolahan gambar yang langsung menggunakan kamera, dapat pula diatur langsung hanya pada objek yang akan ditentukan warnanya.
4. Aplikasi ini dapat pula digunakan untuk menentukan warna objek yang terdapat dalam foto.

Untuk memudahkan dalam penggunaannya, objek yang akan dianalisis warnanya difoto secara utuh dalam *frame* kamera. Warna ikan mas Majalaya adalah *Green grey* dengan kode RAL 7009 atau sama dengan RGB (93, 96, 88) atau CSS (#5d6058).

Warna ikan mas Sinyonya adalah *Ivory* dengan kode RAL 1014 atau sama dengan RGB (221, 196, 154) atau CSS (#ddc49a).

Warna ikan mas mantap adalah *Olive grey* dengan kode RAL 7002 atau sama dengan RGB (126, 123, 082) atau CSS (#7E7B52).

**Catatan :** dapat pula menggunakan aplikasi lain yang sejenis





**Lampiran A  
(normatif)  
Bentuk, ukuran dan warna masing – masing varietas**



**A**



**B**



**C**

Keterangan:

- A. Ikan Mas Majalaya
- B. Ikan Mas Sinyonya
- C. Ikan Mas Mantap

**Gambar A.1. Bentuk, ukuran dan warna masing – masing varietas**



**Tabel A1 - Deskripsi morfologi**

| No. | Varietas            | Deskripsi Morfologi  |
|-----|---------------------|--|
| 1.  | Majalaya dan Mantap | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Warna sisik, hijau keabu-abuan;</li> <li>• Badan pendek dan relatif tinggi;</li> <li>• Dinding perut lebih tebal dibanding varietas lainnya.</li> </ul> |
| 2.  | Sinyonya            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Warna sisik, kuning terang;</li> <li>• Badan relatif ramping;</li> <li>• Mata sipit saat dewasa.</li> </ul>   |

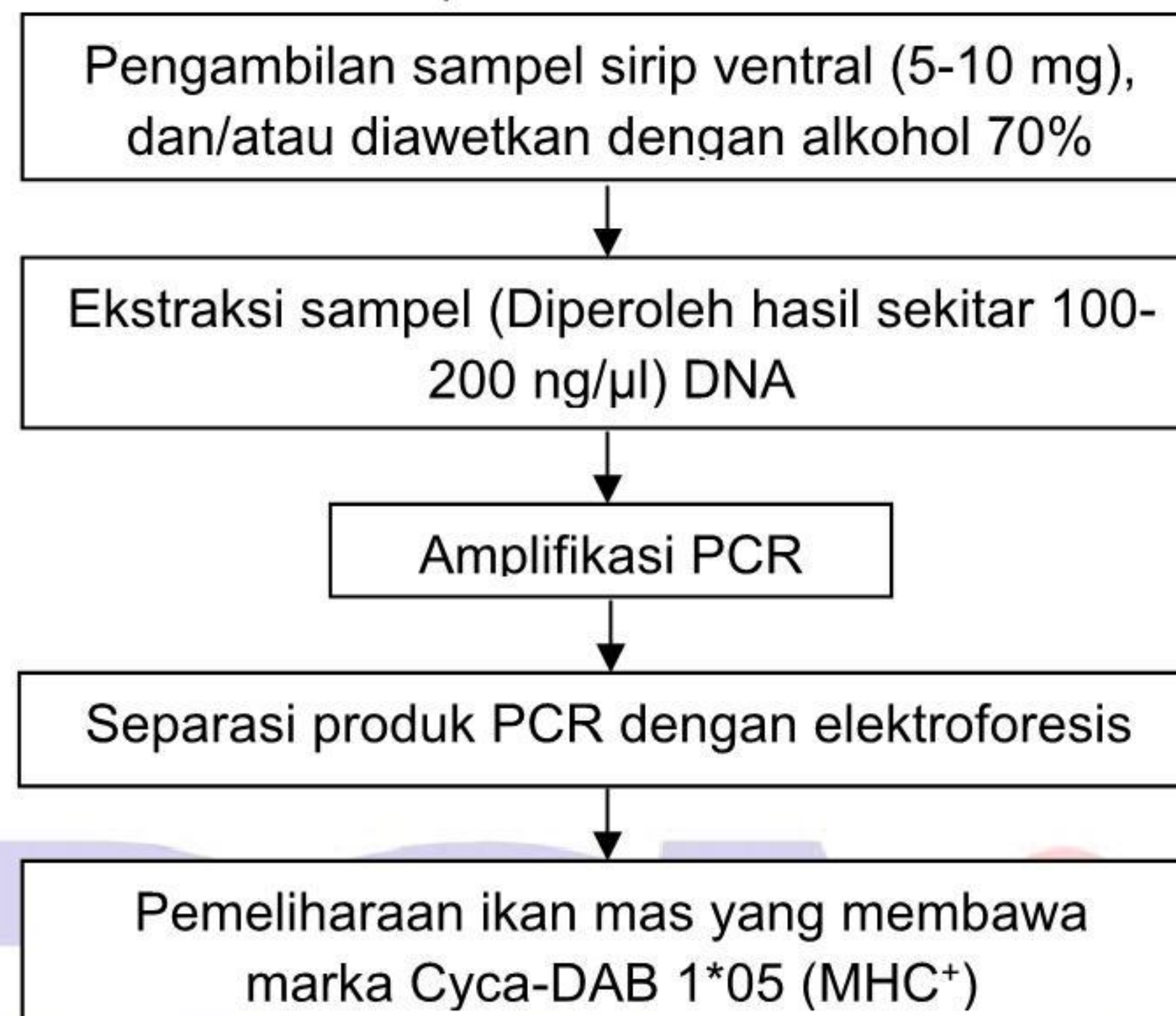
**Tabel A2 - Karakter morfometrik dan meristik ikan mas Majalaya, Sinyonya dan Mantap**

| No. | Karakter   | Majalaya      | Sinyonya      | Mantap        |
|-----|--|---------------|---------------|---------------|
| 1.  | Rasio panjang standar dan tinggi tubuh (PS/TT)   | 2,30          | 3,30          | 2,39 – 2,89   |
| 2.  | Rasio panjang standar dan panjang kepala (PS/PK) | 3,57          | 3,60          | 3,06 – 3,48   |
| 3.  | Rasio tebal tubuh dan tinggi tubuh (TeT/TT)      | 0,42 – 0,61   | -             | 0,47 - 0,65   |
| 4.  | Jumlah sisik pada gurat sisi (linea lateralis)   | 26 – 33       | 32 - 36       | 29 – 35       |
| 5.  | Jumlah jari-jari sirip punggung (D)              | D 3.15 – 3.17 | D 3.15 – 3.19 | D 3.15 – 3.18 |
| 6.  | Jumlah jari-jari sirip dada (P)                  | P 1.12 – 1.17 | P 1.12 – 1.14 | P 1.7 – 1.14  |
| 7.  | Jumlah jari-jari sirip perut (V)                 | V 1.6 – 1.8   | V 1.7         | V 1.6 – 1.12  |
| 8.  | Jumlah jari-jari sirip anal (A)                  | A 3.4 – 3.6   | A 3.5         | A 3.3 – 3.5   |
| 9.  | Jumlah jari-jari sirip ekor (C)                  | C 12 – 16     | C 12 - 16     | C 22          |



**Lampiran B**  
**(normatif)**  
**Karakterisasi marka Cyca-DAB1\*05 (MHC+)**

Identifikasi ikan mas Majalaya yang mempunyai marka *Cyca-DAB1\*05* dilakukan mengikuti metode karakterisasi alel *Cyca-DAB 1\*05* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Tahapan karakterisasi alel tersebut tertera pada Gambar B.1.



**Gambar B.1. Tahapan karakterisasi ikan mas yang mempunyai marka *Cyca-DAB1\*05***

**A. Ekstraksi DNA<sup>1</sup>**

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan kit *Puregene Cell and Tissue* (Qiagen, Ltd)<sup>2</sup>. Rangkaian kegiatannya adalah sebagai berikut:

1. Sampel sirip diambil sebanyak 5-10 mg. Kemudian menambahkan 200  $\mu$ l *cell lysis solution*. Sampel dapat disimpan dengan diawetkan di dalam alkohol 70% jika tidak langsung diekstraksi.
2. Sebanyak 1,5  $\mu$ l Proteinase K (20 mg/ml) ditambahkan dan kemudian jaringan diinkubasi pada suhu 55 °C (*over night*).
3. Sampel dikeluarkan dari alat inkubator dan didiamkan sampai mencapai suhu ruang. Sebanyak 1,5  $\mu$ l RNase (4 mg/ml) ditambahkan dan diaduk dengan hati-hati sebanyak 25 kali agar homogen. Inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 60 menit.
4. Sampel dikeluarkan dari alat inkubator, kemudian disimpan dalam keadaan *on ice* selama 5 menit. Selanjutnya protein diendapkan dengan menambahkan 100  $\mu$ l *protein precipitation solution*.
5. Sentrifugasi pada 12000 rpm, suhu 4°C, selama 15 menit.
6. Supernatan dipindahkan ke mikrotub baru yang telah berisi 300  $\mu$ l isopropanol, kemudian diaduk secara hati-hati sebanyak 50 kali agar menjadi homogen.
7. Sentrifugasi pada 10000 rpm, suhu 4°C, selama 10 menit.
8. Supernatan dibuang, kemudian sebanyak 300  $\mu$ l etanol 70% dingin dimasukkan ke mikrotub untuk memfiksasi DNA.
9. Sentrifugasi pada 10000 rpm, suhu 4°C, selama 10 menit.
10. Etanol dibuang, mikrotub berisi pelet DNA dikeringudarkan.

<sup>1</sup> Metode ekstraksi DNA pada lampiran ini bersifat tidak baku, bergantung pada jenis kit yang digunakan

<sup>2</sup> Untuk ekstraksi DNA dapat digunakan kit lain yang sejenis



11. DNA dilarutkan dengan menambahkan 50 µl SDW (*Steril Destillated Water*), DNA disimpan pada suhu 4°C untuk penyimpanan jangka lama.

## B. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Amplifikasi PCR dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel dapat dilakukan dengan menggunakan *DreamTaq DNA Polymerase* (Fermentas)<sup>3</sup> dengan rincian:

- a. Pembuatan larutan premix

| Bahan                                   | Jumlah                         |
|---|--------------------------------|
| 10 x Bufer <i>Taq DNA Polymerase</i>    | 2,50 µl x jumlah sampel x 1,1  |
| dNTP mix                                | 2,00 µl x jumlah sampel x 1,1  |
| Primer : Cyca-DAB1*05                   |                                |
| a. R: ATCGCTGACTGTCTGTT                 | 1,00 µl x jumlah sampel x 1,1  |
| b. F: CTAATGGATACTACTGG                 | 1,00 µl x jumlah sampel x 1,1  |
| <i>Taq DNA Polymerase</i>               | 0,25 µl x jumlah sampel x 1,1  |
| SDW ( <i>Steril Destillated Water</i> ) | 17,25 µl x jumlah sampel x 1,1 |

- b. Sampel DNA dimasukkan sebanyak 1 µl sehingga volume akhir tiap mikrotub adalah 25 µl.

2. *Mikrotube* dimasukkan ke dalam mesin PCR yang telah diprogram sebagai berikut :

| Proses                 | Suhu (°C) | Lama Waktu | Siklus |
|------------------------|-----------|------------|--------|
| Pengkondisian awal     | 94        | 3 menit    | -      |
| <i>Denaturation</i>    | 94        | 30 detik   | 35     |
| <i>Annealing</i>       | 55        | 30 detik   |        |
| <i>Extension</i>       | 72        | 1 menit    |        |
| <i>Final Extension</i> | 72        | 7 menit    | -      |
| <i>Hold</i>            | 4         | 30 menit   | -      |

3. Setelah proses PCR selesai dan mesin menunjukkan suhu 4°C, mesin dimatikan dan hasil PCR disimpan dalam refrigerator atau selanjutnya dapat langsung dielektroforesis.

## C. Elektroforesis

Separasi produk PCR dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Menyiapkan 1 µl 6x *loading dye*, 5 µl produk PCR, 4 µl *milliqwater* dan 1 µl *loading DNA marker*.
2. Pembuatan gel agarosa 0,8 – 1,0%.
3. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 70 Volt selama 50 menit

<sup>3</sup> Untuk amplifikasi PCR dapat digunakan enzim/kit lain yang sejenis



## Lampiran C (normatif) Uji Tantang

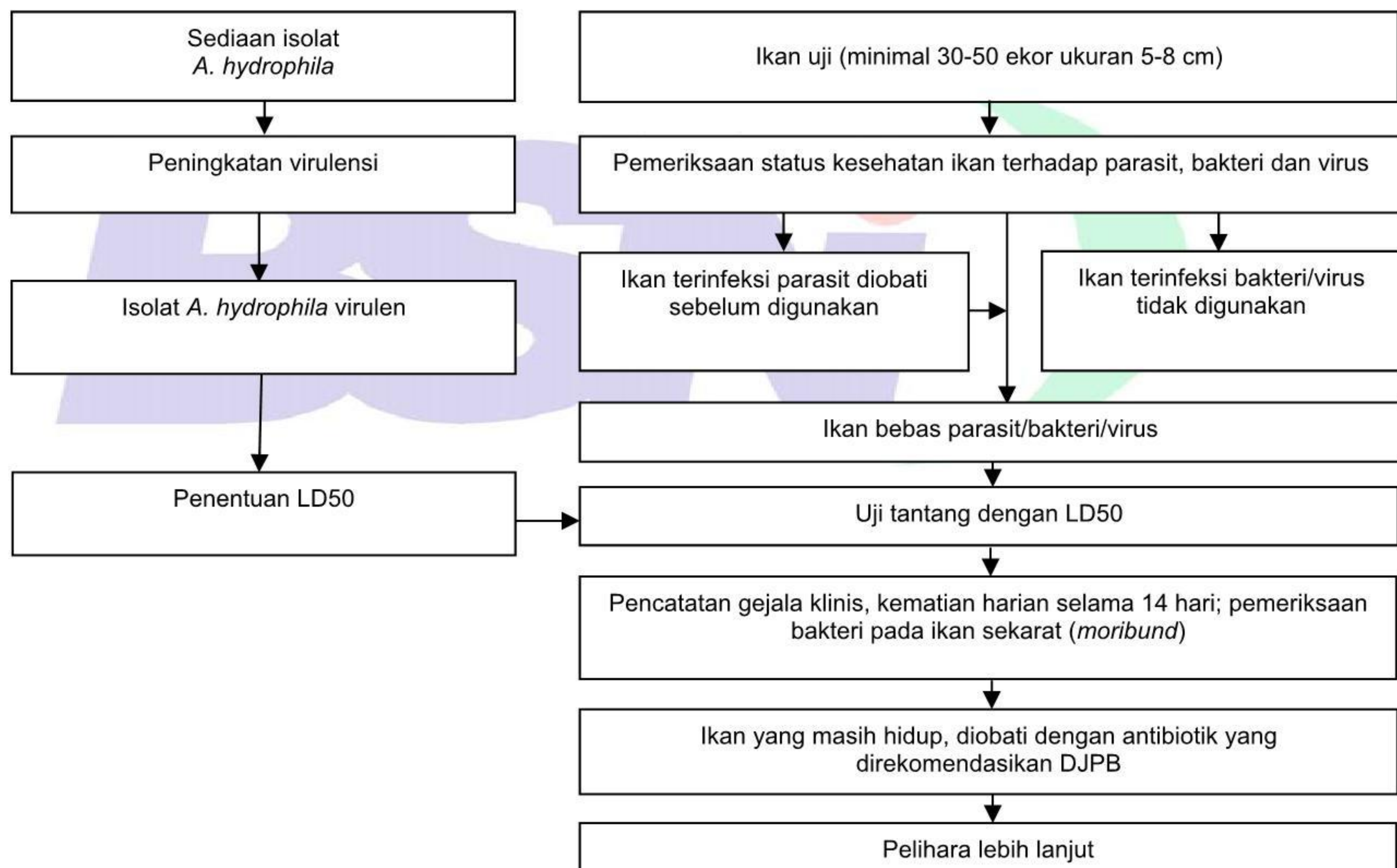
### C.I. Uji Tantang dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Prosedur uji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan sesuai diagram prosedur uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* ditunjukkan pada Gambar C1.

#### C.1.1. Peningkatan virulensi bakteri

Peningkatan virulensi bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Bakteri *A. hydrophila* diisolasi dari ikan mas yang sakit (akibat infeksi bakteri *A. hydrophila*).
2. Isolat bakteri diinokulasi pada media agar dan inkubasi pada suhu 25-28 °C selama 1 hari.
3. Bakteri dibiakkan dalam kultur murni.



**Gambar C1. Diagram penyiapan dan prosedur uji tantang *A. hydrophila***

4. Reidentifikasi (sesuai dengan karakter awal).
5. Bakteri yang sudah dikonfirmasi dibiakkan dalam kultur murni.
6. Ikan disuntik dengan suspensi bakteri (dari poin 5) hingga timbul gejala klinis.
7. Bakteri diisolasi dan ditumbuhkan kembali dan selanjutnya disuntikkan ke ikan mas (diulang sebanyak 3 kali).
8. Suspensi bakteri *A. hydrophila* dibuat dengan berbagai konsentrasi dari poin 7.
9. Uji penentuan dosis *A. hydrophila* dilakukan dengan LD50
10. Konsentrasi dosis *A. hydrophila* dihasilkan yang tepat dengan LD50.



### C.1.2. Prosedur uji tantang

Uji tantang dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Ikan mas yang akan diuji tantang, disediakan yang berukuran minimal 5-8 cm dengan jumlah 30-50 ekor per populasi.
2. Status kesehatan ikan (butir a) diperiksa dari infeksi parasit, virus dan bakteri.
3. Jika ikan terinfeksi parasit, maka ikan diobati dengan bahan kimia, sedangkan jika terinfeksi virus atau bakteri maka ikan tidak digunakan untuk uji tantang.
4. Suspensi bakteri *A. hydrophila* disiapkan yang telah melalui proses isolasi, peningkatan virulensi dan penentuan LD50.
5. Ikan mas disuntik dengan suspensi bakteri *A. hydrophila* dengan dosis 0,1 ml/ekor secara intramuskuler.
6. Gejala klinis dan kematian harian ikan mas didata selama 14 hari (sampai berhenti kematian ikan).
7. Untuk memastikan kematian ikan disebabkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila*, ikan yang sekarat diambil dan dilakukan pemeriksaan bakteri.
8. Parameter kualitas air selama uji tantang dikondisikan optimal untuk pemeliharaan ikan.
9. Selama uji tantang ikan diberi pakan komersial (kandungan protein 28%) secara satiasi.

### C.1.3. Prosedur penentuan LD50

Prosedur penentuan LD50 untuk uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* adalah sebagai berikut:

1. Ikan uji yang akan digunakan diaklimatisasi selama 7 hari.
2. Ikan uji yang akan digunakan dimasukkan ke dalam wadah (minimal 10 ekor).
3. Ikan disuntik dengan suspensi bakteri secara intramuskuler dengan dosis 0,1 ml/ekor menggunakan berbagai konsentrasi bakteri (10<sup>2</sup>-10<sup>9</sup>).
4. Jumlah kematian ikan selama 14 hari di catat (sampai berhenti kematian ikan).
5. Analisis probit.

Tahapan analisis probit dengan rincian sebagai berikut:

- Hubungan antara nilai logaritma konsentrasi bahan toksik dan nilai persentase mortalitas ikan uji adalah linier, dengan fungsi  $Y = a + bx$ .
- Nilai LD50 diperoleh dari anti log m; m merupakan logaritma konsentrasi bahan bakteri *A. hydrophila* pada  $Y=5$ , yaitu nilai probit 50% ikan uji. Nilai a dan b diperoleh dengan persamaan berikut (Hubert, 1980):

$$b = \frac{\sum X*Y - 1/n (\sum X*\sum Y)}{\sum X^2 - 1/n (\sum X)^2} \quad a = 1/n (\sum Y - b*\sum X)$$

$$LD50 = \text{anti log } m; \quad m = \frac{5 - a}{b}$$

#### Keterangan:

Y = nilai probit mortalitas  
n = jumlah perlakuan  
b = slope/kemiringan

X = logaritma konsentrasi bahan uji  
a = konstanta  
m = nilai X, pada Y=5



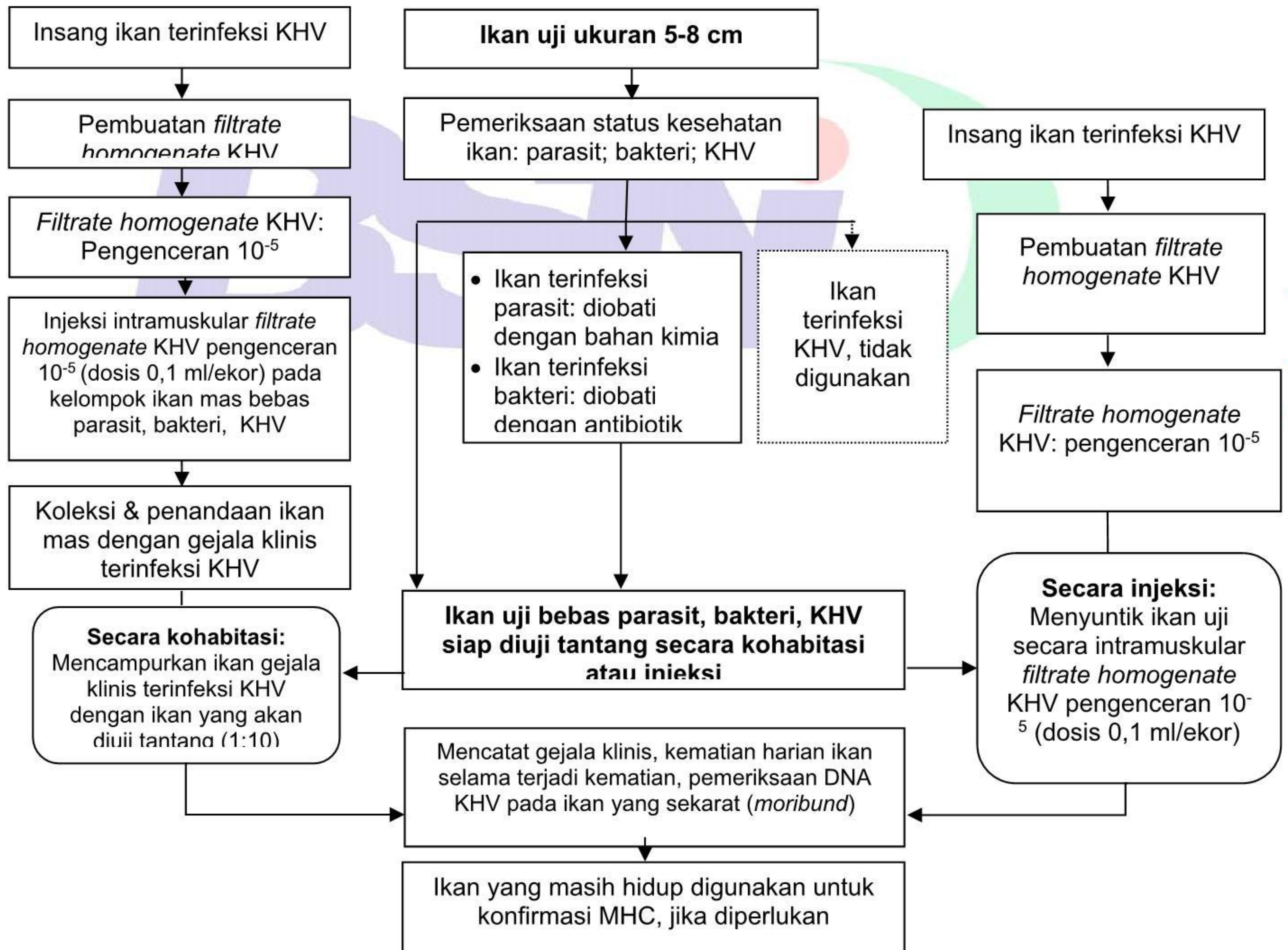
## C.2 Uji Tantang dengan *Koi Herpesvirus* (KHV)

Uji tantang KHV dilakukan mengikuti diagram prosedur uji tantang KHV adalah sebagaimana pada Gambar C2.

### C.2.1. Pembuatan *filtrate homogenate*

Pembuatan filtrate virus KHV dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Jaringan insang dari ikan mas yang positif terinfeksi KHV disiapkan (verifikasi dengan PCR).
2. Jaringan insang ikan digerus dengan mortal hingga halus pada kondisi dingin (on ice).
3. Larutan NaCl fisiologis ditambahkan sehingga menghasilkan konsentrat virus 10% (w/v).
4. Sentrifugasi suspensi konsentrat virus pada 3 000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C.
5. Supernatan diambil dengan menggunakan syringe.
6. Supernatan disaring dengan kertas saring Milipore 0,45 µm (hasil saringan ini merupakan inokulan baku virus herpes).
7. Sebelum dipakai untuk menginfeksi, bahan inokulan baku virus tersebut diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis untuk mendapatkan konsentrasi 10<sup>-5</sup>.



Gambar C2 - Diagram penyiapan dan prosedur uji tantang KHV

### C.2.2. Pelaksanaan uji tantang dengan metode injeksi

Uji tantang KHV dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Ikan yang akan diuji tantang disiapkan.



2. Status kesehatan ikan (butir a) diperiksa dari infeksi parasit maupun bakteri.
3. Jika ikan terinfeksi parasit, diobati dengan bahan kimia, sedangkan bila terinfeksi bakteri, diobati dengan antibiotik.
4. Menyuntik ikan mas dengan filtrate homogenate KHV (pengenceran 10-5) dengan dosis 0,1 ml/ekor ikan secara intramuskuler.
5. Gejala klinis dan kematian ikan dicatat secara harian selama terjadi kematian.
6. Untuk memastikan kematian ikan disebabkan oleh KHV, insang diambil dari ikan yang moribund untuk diuji PCR.
7. Kisaran suhu air pemeliharaan selama uji tantang (20-25 °C) dan kandungan oksigen tidak kurang dari 4 ppm.
8. Selama uji tantang ikan diberi pakan komersial (kandungan protein 28%) secara satiasi.





## Bibliografi

- [1] Sucipto, A. 2013. *Manajemen produksi ikan mas*. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT). Sukabumi. 22 halaman.
- [2] OIE. 2015. *Manual of Diagnostics Test for Aquatic Animal*

